

# “洛阳红”牡丹叶片多糖提取条件的研究

朱 月, 毕晓丹, 赵雪梅

(赤峰学院 生命科学系, 内蒙古 赤峰 024001)

**摘 要:**在单因素试验的基础上确定正交实验的因素水平, 采用  $L_9(3^4)$  正交实验, 以多糖提取率为指标, 对浸提温度(A)、料液比(B)、浸提次数(C)进行优化研究。结果表明: 影响“洛阳红”牡丹叶片多糖提取率因素的主次关系为  $B > C > A$ , 最佳提取条件为  $A_2 B_3 C_2$ , 即料液比为 1 g : 30 mL, 浸提温度 70 ℃, 浸提 2 次, 浸提时间为 30 min。试验优选结果稳定可行。

**关键词:**“洛阳红”牡丹叶片; 多糖; 正交实验; 浸提条件优选

**中图分类号:**S 685.11 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)04-0149-03

牡丹是重要的观赏植物, 资源丰富。以洛阳为中心的中原牡丹品种群已辐射、传播至全国各地, 并不断繁衍, 成为中国牡丹资源的重要分布地及中国乃至世界牡丹的栽培中心之一。

据报道<sup>[1]</sup>洛阳牡丹有 10 个花型, 503 个品种。它集观赏、药用、食用为一身。如丹皮可入药, 可治高血压、除伏火、清热散瘀、去痛消肿等。花瓣、花粉有多种对人体有益的物质。近年来, 洛阳牡丹产业发展已形成格局<sup>[2]</sup>, 以牡丹为特色的系列产品不断研发。为了进一步拓展牡丹研究的领域, 提升牡丹的应用价值和经济价值, 为研究牡丹多糖提供最佳的浸提条件, 现以“洛阳红”牡丹叶片为试材, 对热水浸提牡丹叶片多糖的最佳条件进行研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

“洛阳红”牡丹叶片。葡萄糖, 苯酚, 浓硫酸均为国产分析纯。紫外可见分光光度计(UV-9100 北京瑞利), 电子天平(FA1004N 上海精密仪器科学有限责任公司), 恒温水浴(D2kw-4 金坛市杰瑞尔电器有限公司), 低速离心机(TDB 湘仪离心机仪器有限公司)等。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 材料处理** 将摘取的“洛阳红”牡丹叶片洗净沥干, 于 80℃ 恒温干燥箱内烘干, 研磨过筛, 收集粉末备用。

**1.2.2 苯酚硫酸法制备葡萄糖标准曲线** 取干燥洁净的试管编号, 1 号管为空白管, 2-8 号管为试验管。向空白管内加入 2 mL 去离子水, 试验管内依次加入 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mL 质量浓度为 0.2 mg/mL 标准葡萄糖溶液, 用去离子水使各试验管的体积为

2 mL。混匀后依次向各试管内加入 15% 苯酚 1.0 mL 和浓硫酸 5 mL。放置 10 min 后, 于 25℃ 水浴中保温 20 min。取出试管在 490 nm 处测反应液的光吸收值。以葡萄糖浓度(mg/mL)为横坐标, 光吸收值(OD)为纵坐标, 绘制葡萄糖标准曲线, 求出直线方程。

**1.2.3 筛选热水浸提多糖的条件**<sup>[3,7]</sup> 选定料液比、浸提时间、浸提温度和浸提次数 4 个因素进行单因素试验。在单因素试验的基础上, 确定影响热水浸提多糖的因素和水平。按  $L_9(3^4)$  正交设计进行试验。浸提液离心、收集上清液, 定容稀释, 获取粗多糖稀释液。采用苯酚硫酸法测定并计算“洛阳红”牡丹叶片多糖的百分含量。以筛选出的最佳浸提条件进行验证性试验, 判断所确立的多糖提取的最佳条件的稳定性及可重复性。

## 2 结果与分析

### 2.1 葡萄糖标准曲线

标准葡萄糖浓度在 0~0.16 mg/mL 范围内, 质量浓度与吸光度线性关系良好。直线方程  $y = 12.623x - 0.0091$ 。相关系数  $r = 0.9981$ 。

### 2.2 单因素试验结果与分析

不同料液比、不同浸提时间、不同浸提温度和不同浸提次数对多糖提取均产生影响。粗多糖百分含量在所设定的因素水平范围内随着料液比比值的增大、浸提次数的增多、浸提温度的升高而增加(如图 1、3、4 所示), 浸提时间对粗多糖百分含量影响不大(图 2)。

### 2.3 正交实验结果与分析

**2.3.1 正交实验因素和水平** 根据单因素试验结果, 确定三因素三水平的正交实验(表 1)。

表 1 正交实验因素水平表

水平	因素		
	A(浸提温度/℃)	B(料液比)	C(次数)
1	50	1:10	1(次/60 min)
2	70	1:20	2(次/30 min)
3	90	1:30	3(次/20 min)

**第一作者简介:**朱月(1958-), 女, 辽宁黑山人, 本科, 教授, 现从事生物化学的教学与科研工作。E-mail:cfzy212@126.com。

**收稿日期:**2010-11-27

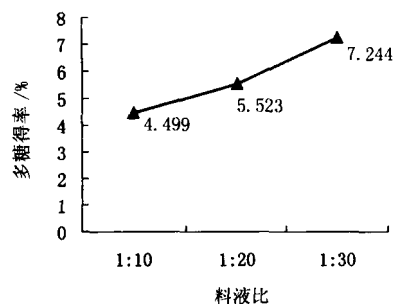


图1 不同料液比对多糖得率的影响

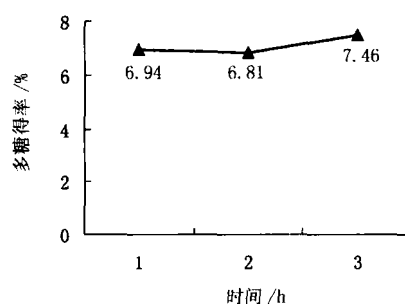


图2 不同浸提时间对多糖得率的影响

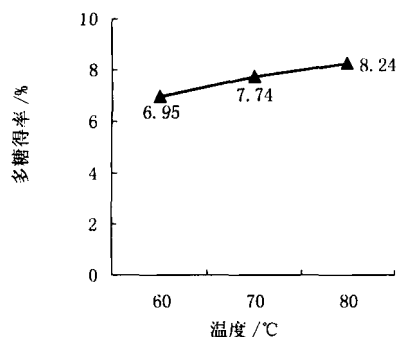


图3 不同温度对多糖得率的影响

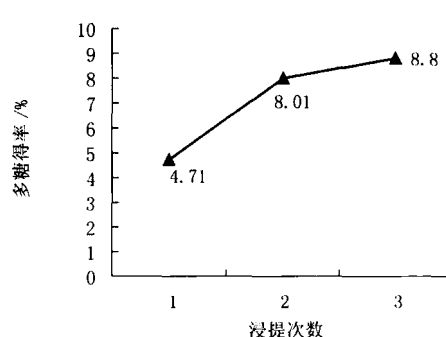


图4 不同浸提次数对多糖得率的影响

2.3.2 结果与分析 极差分析显示,各因素作用主次依次为  $B>C>A$ (表2)。方差分析结果显示,料液比和浸提次数对多糖提取均具有显著影响( $P<0.05$ ),浸提温度对多糖提取影响不显著(表3)。因此,确定热水浸提“洛阳红”牡丹叶片多糖的最优组合为料液比为  $1\text{ g}:30\text{ mL}$ ,浸提温度为  $70^{\circ}\text{C}$ ,浸提2次,每次浸提30 min。验证性试验结果显示,“洛阳红”牡丹叶片多糖百分含量为11.291%,高于正交实验各试验组多糖的百分含量。证明所确定的优组合具有可重复性,稳定可靠。

表2 极差分析

试验号	因素				粗多糖含量% (均值)
	A	B	C	D(空列)	
1	1	1	1	1	6.53
2	1	2	2	2	8.75
3	1	3	3	3	9.34
4	2	1	2	3	8.91
5	2	2	3	1	8.83
6	2	3	1	2	8.43
7	3	1	3	2	5.74
8	3	2	1	3	6.85
9	3	3	2	1	9.66
K1	24.62	21.18	21.81	25.02	T=73.04
K2	26.17	24.43	27.32	22.92	
K3	22.25	27.43	23.91	25.1	
κ1	8.21	7.06	7.27	8.34	
κ2	8.72	8.14	9.11	7.64	
κ3	7.42	9.14	7.97	8.37	
R(极差)	1.31	2.08	1.84	0.73	
主次关系			B>C>A		
优水平	A <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>2</sub>		
优组合	A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub>				

表3 方差分析

变异来源	SS	df	MS	F	P
A	7.8779	2	3.9390	2.2819	$>0.05$
B	19.6752	2	9.8376	5.6990	$<0.05$
C	15.3712	2	7.6856	4.4523	$<0.05$
D	3.0484	2	1.5242		
误差	3.6357	18	0.2019		
总和	49.6085	26			

### 3 结论

试验证明“洛阳红”牡丹叶片多糖提取的优组合料液比为  $1\text{ g}:30\text{ mL}$ ,浸提温度为  $70^{\circ}\text{C}$ ,浸提2次,每次浸提时间为30 min。该组合操作简单,方便快捷,多糖产率高,重复性好,稳定可靠。

### 参考文献

- [1] 蒋明旺,李保印,周秀梅,等. 洛阳牡丹品种考察[J]. 安徽农业科学, 2007,35(18):5400-5401.
- [2] 张赞平. 洛阳牡丹产业化发展背景[J]. 河南科技大学学报(社会科学版),2003,21(1):84-86.
- [3] 李小会,李建珊,李志洲. 回归正交法优化丝瓜多糖提取工艺[J]. 食品与发酵科技,2009,45(4):63-66.
- [4] 陈红燕,盛建国,杜健,等. 正交设计法优化丝瓜水多糖的提取工艺[J]. 安徽化工,2008,34(6):17-19.
- [5] 马瑞君,郭守军,杨永利,等. 正交试验法优选坛紫菜多糖的提取工艺[J]. 食品科学,2006,27(12):524-526.
- [6] 陆林博,王燕飞,龚祝南. 正交法筛选槲寄生多糖水提取工艺[J]. 四川中医,2006,24(6):37-38.
- [7] 杨爱岗,冀保全,唐玲,等. 正交实验优选裂叶荨麻根的多糖提取工艺[J]. 中南药学,2007,5(1):12-13.

# 金盏花快繁技术研究

张梅秀, 臧广鹏, 张秀华, 常 瑛, 魏玉杰

(甘肃省农垦农业研究院, 甘肃 武威 733006)

**摘 要:**对金盏花茎段快繁技术进行了初步研究。结果表明:MS+BA 0.1 mg/L+NAA 0.2 mg/L 是金盏花茎段培养适宜的培养基, 诱芽率和生根率分别为 90.2% 和 86.4%, 并可一次成苗。试管苗移栽前要进行适宜的温度、湿度锻炼, 使其逐渐适应自然环境。

**关键词:**金盏花; 组织培养

**中图分类号:**S 681.703.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)04-0151-02

金盏花作为甘肃省农垦农业研究院的支柱产业之一, 它的制种要求在保护地中进行, 一次性投入较高。由于其花期长达 2~3 个月, 每朵花又需多次授粉, 制种时授粉用工费用较高。再加之金盏花制种单位面积产量较低, 667 m<sup>2</sup> 仅为 3~5 kg, 致使 F1 代种子成本较高。而通过组织培养的方法繁殖金盏花, 不受季节、空间的限制, 可以降低成本, 提高繁殖系数, 并可保持原有的优良性状。现通过用组织培养快速繁殖的方法, 开辟金盏花工厂化无性繁殖的新途径。

**第一作者简介:**张梅秀(1976-), 女, 甘肃临洮人, 农艺师, 现主要从事组织培养研究工作。

**通讯作者:**魏玉杰(1967-), 男, 甘肃通渭人, 高级农艺师, 在读博士, 现主要从事药用植物研究工作。

**基金项目:**甘肃省科技厅科技攻关资助项目(092NKDH005); 特色农作物生物技术育种创新团队(098TTCH002)资助项目。

**收稿日期:**2010-11-17

## 1 材料与方法

试验材料来源于甘肃省农垦农业研究院自育金盏花杂交种, 从田间剪取嫩梢, 去大叶片, 装入广口瓶中带回, 以不接近土和不带土为佳。将采回的嫩梢剪除叶片及顶端, 用流水冲洗 30 min, 在无菌条件下, 用 70% 的酒精消毒 30 s (倒入摇匀后即倒去酒精), 用无菌水冲洗 2 次, 再放入 1:250 的巴斯溶液中消毒 5 min, 用无菌水冲洗 2 遍, 用 0.1% 的氯化汞消毒 5 min, 用无菌水冲洗 5 遍。剪去药液接触过的伤口, 再将剪成 0.5 cm 左右、带 1 个侧芽的茎段, 在无菌条件下接种于经高压灭菌的培养基中。采用垂直正插的方式, 每瓶中只接 1 个单芽茎段。在继代培养时, 将瓶内的组培苗剪成单芽茎段, 每瓶接 5 个茎段。

该试验采用的基本培养基为 MS 培养基, 附加的植物生长调节物质为 BA 0.1 mg/L 和 NAA 0.2 mg/L, 蔗糖浓度为 3%, 琼脂浓度为 1%, pH 值调至为 5.8, 装入 150 mL 的三角瓶中, 用 0.14 MPa 高压灭菌 25 min。将接种后的三角瓶放在培养架上, 温度保持 25℃, 光照强

## Research on Extraction Condition of Polysaccharide of 'LuoYanghong'

### *Paeonia suffruticosa* Leaves

ZHU Yue, BI Xiao-dan, ZHAO Xue-mei

(Department of Life Science, Chifeng College, Chifeng, Inner Mongolia 024001)

**Abstract:** The L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) orthogonal test based on the single-factor experiment was carried out to optimize the extraction condition. We had studied the influences of different extraction conditions like temperature(A), liquid/solid ratio(B) and extracting times(C) on the extraction rate of polysaccharides of *Paeonia suffruticosa* Leaves. The results showed that the affect extraction rate ranked in the order of B>C>A. The optimum extracting condition was as following A<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>, Solid to liquid ratio was 1 g:30 mL, extraction temperature of 70℃, extraction twice, extraction time was 30 min. The optimized process was stable and feasible

**Key words:** 'LuoYanghong' *Paeonia suffruticosa* leaves; polysaccharide; orthogonal test; optimized extracting condition